

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: 21620121152328

UDC\_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

外源一氧化氮促进水稻根部对亚硒酸盐吸收代谢机制研究

Mechanistic Study on Selenite Absorption and Metabolism  
Promoted by Exogenous Nitric Oxide in Rice Seedling Roots

李秀玲

指导教师姓名: 郑海雷 教授

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2015 年 月

论文答辩时间: 2015 年 月

学位授予日期: 2015 年 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2015 年 05 月

厦门大学博硕士论文摘要库

# 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外，该学位论文为(环境植物学与植物分子生物学)课题(组)的研究成果，获得(国家自然科学基金项目(30930076, 31300505 和 31260057))课题(组)经费或实验室的资助，在(郑海雷 教授)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库

# 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文(包括纸质版和电子版)，允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

(        )1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于  
年    月    日解密，解密后适用上述授权。

(        )2. 不保密，适用上述授权。

(请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。)

声明人(签名)：

年    月    日

厦门大学博硕士论文摘要库

# 目 录

缩略词 .....	I
摘 要 .....	I
第 1 章 前言 .....	1
1.1 高等植物硒研究进展 .....	1
1.1.1 硒的生理学作用 .....	1
1.1.2 土壤中硒的主要存在形态 .....	4
1.1.3 植物对硒的吸收和转运 .....	4
1.1.4 植物硒代谢机理研究进展 .....	6
1.1.5 植物硒积累分子机制研究进展 .....	6
1.2 一氧化氮 (NO) 在高等植物中研究进展 .....	8
1.2.1 NO 理化性质 .....	8
1.2.2 植物体内 NO 的合成 .....	8
1.2.3 NO 在植物生长发育中的作用 .....	12
1.2.4 NO 与植物胁迫响应 .....	15
1.3 本论文立题依据及研究意义 .....	18
第 2 章 材料与方法 .....	19
2.1 实验材料培养与处理 .....	19
2.1.1 水稻材料的培养 .....	19
2.1.2 水稻材料的处理 .....	19
2.2 主要试剂和仪器设备 .....	20
2.2.1 主要试剂 .....	20
2.2.2 主要仪器设备 .....	20
2.3 水稻生长指标的测定 .....	20
2.4 水稻不同部位硒累积分析 .....	21
2.4.1 水稻地上部分与地下部分总硒的测定 .....	21

2.4.2 水稻根部硒形态分析.....	21
2.5 水稻根部 NO 荧光分析和相对含量测定 .....	22
2.6 水稻根部谷胱甘肽含量的测定 .....	22
2.7 半胱氨酸合成酶、谷胱甘肽还原酶及谷胱甘肽 S-转移酶活性测定.....	22
2.8 实时荧光定量 PCR 分析.....	23
2.8.1 总 RNA 的提取 .....	23
2.8.2 总 RNA 的定量与检测 .....	24
2.8.3 单链 cDNA 合成 .....	24
2.8.4 实时荧光定量 PCR.....	26
2.9 数据分析及作图 .....	27
第 3 章 结果与分析.....	28
3.1 亚硒酸盐对水稻幼苗生长及植物硒累积的影响 .....	28
3.2 NO 供体 SNP 对水稻地上与地下部分硒含量的影响.....	29
3.3 NO 清除剂和合成抑制剂对水稻幼苗硒累积的影响 .....	30
3.4 SNP 对水稻根部硒形态及相对含量的影响.....	32
3.5 SNP 对水稻根部硒吸收相关转运体基因表达的影响.....	34
3.6 SNP 对水稻根部硒代谢的影响.....	35
3.6.1 SNP 对谷胱甘肽（GSH）生物合成的影响 .....	35
3.6.2 SNP 对硒代谢相关酶活性的影响 .....	36
3.6.3 SNP 对硒代谢相关基因转录水平的影响 .....	37
第 4 章 讨论.....	39
4.1 亚硒酸钠对水稻幼苗生长及硒累积的影响 .....	39
4.2 NO 促进水稻根部硒的累积 .....	40
4.2.1 NO 调控了水稻根对硒的吸收.....	40
4.2.2 NO 影响了根部硒的代谢.....	41
第 5 章 结论与展望.....	46
5.1 结论.....	46
5.2 展望.....	47



参 考 文 献.....	49
--------------	----

致 谢.....	63
----------	----

厦门大学博士论文摘要库

厦门大学博硕士论文摘要库

# Content

<b>Abbreviations .....</b>	<b>I</b>
<b>Chinese abstract.....</b>	<b>I</b>
<b>English abstract.....</b>	<b>III</b>
<b>Chapter 1 Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Research progresses on selenium utilization in high plants .....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Physiological function of selenium.....	1
1.1.2 Main species of selenium in the soil .....	4
1.1.3 Selenium absorption and translocation in plants .....	4
1.1.4 Metabolism of selenium in plants .....	6
1.1.5 Research progress on molecular mechanism of selenium accumulation in plants .....	6
<b>1.2 Research progresses on nitric oxide in high plants .....</b>	<b>8</b>
1.2.1 Physical and chemical properties of nitric oxide .....	8
1.2.2 Nitric oxide biosynthesis in plants .....	8
1.2.3 Role of nitric oxide in plant growth and development .....	12
1.2.4 Nitric oxide and plants stress responses.....	15
<b>1.3 Purpose and scientific significance of the present study .....</b>	<b>18</b>
<b>Chapter 2 Materials and methods.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Plant culture and treatments.....</b>	<b>19</b>
2.1.1 Rice culture .....	19
2.1.2 Rice treatments.....	19
<b>2.2 Main reagents, instruments and equipments .....</b>	<b>20</b>
2.2.1 Main reagents .....	20
2.2.2 Main instruments and equipments .....	20
<b>2.3 Rice growth determination.....</b>	<b>20</b>
<b>2.4 Analysis of selenium accumulation in different parts of rice .....</b>	<b>21</b>

2.4.1 Measurement of total Se in rice shoots and roots .....	21
2.4.2 Analysis of Se speciations in rice roots .....	21
<b>2.5 Measurement of NO fluorescence and relative NO content in rice roots</b>	<b>22</b>
<b>2.6 Glutathione content in rice roots .....</b>	<b>22</b>
<b>2.7 Activities of cysteine synthase, glutathione reductase and glutathione S-transferase .....</b>	<b>22</b>
<b>2.8 Real-time fluorescent quantitative PCR analysis .....</b>	<b>23</b>
2.8.1 Total RNA extraction .....	23
2.8.2 Total RNA quality analysis and detection .....	24
2.8.3 Single stranded cDNA synthesis .....	24
2.8.4 Real-time fluorescent quantitative PCR .....	26
<b>2.9 Statistical analysis and graphics .....</b>	<b>27</b>
<b>Chapter 3 Results and analysis .....</b>	<b>28</b>
<b>3.1 Effects of selenite on rice growth and Se accumulation .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2 Effect of NO donor (SNP) on Se content in rice shoots and roots .....</b>	<b>29</b>
<b>3.3 Effect of NO scavenger and NO synthesis inhibitors on Se accumulation in rice .....</b>	<b>30</b>
<b>3.4 Effect of SNP on Se speciations and relative content in rice roots .....</b>	<b>32</b>
<b>3.5 Effect of SNP on gene expressions of Se uptake-related transporters in rice roots .....</b>	<b>34</b>
<b>3.6 Effect of SNP on Se metabolism in rice roots .....</b>	<b>35</b>
3.6.1 Effect of SNP on glutathione (GSH) biosynthesis .....	35
3.6.2 Effect of SNP on Se metabolism related enzyme activities .....	36
3.6.3 Effect of SNP on Se metabolism related genes expression .....	37
<b>Chapter 4 Discussion .....</b>	<b>39</b>
<b>4.1 Effect of selenite on rice growth and Se accumulation .....</b>	<b>39</b>
<b>4.2 NO promotes Se accumulation in rice seedling roots .....</b>	<b>40</b>
4.2.1 NO regulates Se absorption in rice seedling roots .....	40
4.2.2 NO affects Se metabolism in rice seedling roots .....	41

<b>Chapter 5 Conclusions and prospects .....</b>	<b>46</b>
<b>5.1 Conclusions .....</b>	<b>46</b>
<b>5.2 Prospects .....</b>	<b>47</b>
<b>References .....</b>	<b>49</b>
<b>Acknowledgements.....</b>	<b>63</b>

厦门大学博士论文摘要库

## 缩略词

ABA	abscisic acid	脱落酸
cPTIO	2-(4-carboxy-phenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide	2-(4-羧苯基)四甲基咪唑烷-1-氧-3-氧化物
CS	cysteine synthase	半胱氨酸合成酶
GA	gibberellic acid	赤霉素
GR	glutathione reductase	谷胱甘肽还原酶
GS	glutathione synthase	谷胱甘肽合成酶
GSH	glutathione	谷胱甘肽
GST	glutathione S-transferase	谷胱甘肽 S-转移酶
GSH-Px	glutathione peroxidase	谷胱甘肽过氧化物酶
HMT	homocysteine methyltransferase	同型半胱氨酸甲基转移酶
HPLC-ICP/MS	high performance liquid chromatography tandem inductively coupled plasma mass spectrometry	高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	hydrogen peroxide	过氧化氢
IAA	auxin	生长素
ICP/MS	inductively coupled plasma mass spectrometry	电感耦合等离子体质谱
L-NNA	N <sup>ω</sup> -nitro-L-arginine	N <sup>ω</sup> -硝基-L-精氨酸
MeSeCys	methyl-selenocysteine	甲基硒代半胱氨酸
MMT	S-adenosyl-L-Met:L-Met S-methyltransferase	S-腺苷-1-甲硫氨酸: 1-甲硫氨酸 S-甲基转移酶
NO	nitric oxide	一氧化氮
NOS	NO synthetase	一氧化氮合成酶

NIP	silicon influx transporter	硅酸盐转运体
NR	nitric reductase	硝酸还原酶
OAS	<i>O</i> -acetylserine	O-乙酰丝氨酸
PT2	phosphate transporter 2	磷酸盐转运体 2
qRT-PCR	quantitative real-time RT-PCR	实时荧光定量 PCR
ROS	reactive oxygen species	活性氧
SA	salicylic acid	水杨酸
SAM	S-adenosylmethionine	S-腺苷甲硫氨酸
SAMS	S-adenosylmethionine synthetase	S-腺苷甲硫氨酸合成酶
Se	selenium	硒元素
SeCys	selenocysteine	硒代半胱氨酸
SeGSH	Se-glutathione	硒代谷胱甘肽
SeMet	selenomethionine	硒代蛋氨酸
SeMM	Se-methylmethionine	甲基硒代蛋氨酸
SeOMet	oxidized selenomethionine	氧化型硒代蛋氨酸
SMM	S-methylmethionine	S-甲基甲硫氨酸
SMT	selenocysteine methyltransferase	硒代半胱氨酸甲基转移酶
SNP	sodium nitroprusside	硝普钠
Sultr	sulphate transporter	硫酸盐转运体
$\gamma$ -ECS	gamma-glutamylcysteine synthetase	伽马谷氨酰半胱氨酸合成酶

## 摘 要

硒(selenium, Se)作为人和动物的必需元素之一, 有非常重要的生理功能。可食性植物是人和动物的主要硒源, 探索植物硒累积分子机制以及寻找提高植物硒含量的策略具有重要现实意义。

一氧化氮(nitric oxide, NO)作为一种重要的生物信号分子, 在动植物体内起着重要的作用。低浓度 NO 对植物的生长发育以及多种逆境胁迫抗性具有重要影响。已有部分研究表明硒能引起植物体内 NO 的变化, 且 NO 能缓解硒诱导的水稻脂质过氧化, 但目前关于 NO 对硒吸收代谢调控的分子机制研究尚未报道。本文以重要的粮食作物水稻(*Oryza sativa*)为材料, 以亚硒酸钠(sodium selenite,  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ )为硒源, 以硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)作为 NO 供体, 应用电感耦合等离子体质谱仪(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP/MS)、高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术(high performance liquid chromatography tandem inductively coupled plasma mass spectrometry, HPLC-ICP/MS)和实时荧光定量 PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)等实验手段, 同时结合生长指标和生理指标测定, 首次从基因水平上研究了 NO 调控水稻硒吸收代谢的分子机理。取得主要研究结果如下:

(1)  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  剂量效应研究显示, 低浓度硒处理( $<20 \mu\text{M}$ )能促进根的生长, 且  $6 \mu\text{M}$  硒处理促进作用最明显, 而高浓度硒( $\geq 20 \mu\text{M}$ )抑制根生长; 但硒处理对地上部分表现出不同程度的抑制作用。不同浓度  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理下, 根部硒的累积随着处理液硒浓度的增加而增加; 当处理液硒浓度低于  $20 \mu\text{M}$  时, 地上部分硒累积效果随硒浓度的增加而增加, 而当处理液硒浓度高于  $20 \mu\text{M}$  时其硒累积呈现饱和现象。

(2) SNP 剂量效应研究显示, 在  $6 \mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理下,  $10 \mu\text{M}$  SNP 能有效促进水稻根部硒的累积, 可作为促进水稻硒累积的最佳浓度。外源 NO 清除剂(cPTIO)和硝酸还原酶(NR)抑制剂钨酸钠(Tungstate)处理均降低了根内 NO 的含量和根内硒的含量, 但 NO 合成酶(NOS)抑制剂  $\text{N}^\omega$ -硝基-L-精氨酸(L-NNA)对 NO 含量和根内硒的累积没有影响。



Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.